雜糧作物生產技術改進研討會專刊
臺灣省農業試驗所專刊第49號(1995)

大豆種間雜交與雜交胚及胚乳發育之研究

林正斌　葉茂生
國立中興大學農藝學系

摘　　要

以栽培種大豆 (*G. max*) 與 *Glycine* 亞屬之野生種 *G. tomentella*、*G. dolichocarpa*、*G. tabacina*、*G. latifolia*、*G. canescens* 及 *G. falcata* 等 8 種 19 系統爲材料，進行栽培種與野生種之種間雜交，調查正、反雜交的成功率，並利用石蠟切片，行組織學觀察不同物種大豆之自交及種間雜交後胚及胚乳之發育，結果如下。

以 *G. max* 爲母本，野生種大豆爲父本，5 天內不落莢之正交成功率爲 9.4% (468/ 4,972)；反交之成功率爲 4.3% (55/1,289)；正交組合中，栽培種與野生種大豆雜交均無法獲得雜交種子，且雜交莢在授粉後 25 天左右掉落。

大豆不同物種自交胚及胚乳之發育，除胚乳均屬核型胚乳外，胚的發育期相當不一致，發育最快者爲 *G. tabacina* (Ta18)，其次依序爲 *G. latifolia* (La2)，*G. canescens* (Ca1)，*G. max* (KS10) 及 *G. tomentella* (To12)，最慢爲 *G. dolichocarpa* (Do 3)。其發育至子葉期的時間分別爲 10、12、13、17 及 18 天。

種間雜交胚及胚乳發育切片結果，所有組合胚乳均較胚提前敗育，各正反組合 11-16 天胚乳開始出現敗育，而 18-24 天胚組織呈敗育現象。

關鑑詞：大豆、種間雜交、胚、胚乳。

前　　言

大豆是目前栽培作物中含蛋白質和油分均高的作物之一，而野生種大豆則具有抗病、抗寒、抗旱等特性(盧，1966；Stalker，1980；Brown *et al.*, 1984)，如 *G. formosana* 具抗黃崁紋病 (yellow mosaic)(Singh *et al.*, 1974)，*G. canescens* 對大豆白粉病 (powdery mildew)具有抵抗性(Newell and Hymowitz，1975)，*G. tomentella*、*G. microphylla* 及 *G. argyrea* 均較栽培種具高耐鹽性 (Pantalone and Kenworthy，1989)，因此作物育種家對這些野生種極感興趣，試圖將這些優良性狀轉移至栽培種大豆。

目前大豆屬 (*Glycine*) 分成 *Soja* 與 *Glycine* 兩個亞屬 (subgenus)，其中 Soja 亞屬包括栽培種 *G. max*，中間種 *G. gracilis* 和近緣野生種 *G. soja* 3 種，而 *Glycine* 亞屬則包括 *G.*

canescens、*G. clandestina*、*G. falcata*、*G. latifolia*、*G. latrobeana*、*G. tabacina* 和 *G. tomentella* 等 7 種 (Newell and Hymowitz，1980)；Tindle (1984, 1986a) 及 Tindle and Craven (1988) 在澳洲又新發現 *G. albicans*、*G. arenaria*、*G. argyrea*、*G. curvata*、*G. cyrtoloba*、*G. hirticaulis*、*G. lactovirens*、*G. microphlla* 等 8 種，最近 Tateish and Okashi (1992) 又將臺灣臺東原屬於 *G. tomentella* 分出，命名為 *G. dolichocarpa* 新種，因此目前大豆屬共計 19 種(species)。

作物種間雜交具高度雜交不和合性(cross incompatibility) 與雜種不稔性(hybrid sterility)，大豆種間雜交亦是如此，目前除 *Soja* 亞屬之 *G. soja*、*G. gracilis* 與 *G. max* 種間雜交可產生種子外，*Glycine* 亞屬和 *G. max* 雜交，均無法自然產生正常雜交種子；目前能獲得雜種植株或雜交種子，除 Shoemaker *et al.* (1990) 以 *G. max* x *G. tomentella* 利用秋水仙鹼處理，而獲得雜交種子外，其餘皆是利用胚培養方式獲得。一般在種間雜交時，胚和胚乳無法正常完全發育，*Glycine* 亞屬之野生大豆和 *G. max* 雜交，雖然授粉後均可受精，然而胚卻在不同發育時期發生停滯或敗育 (林，1993；Tsai and Yeh, 1992)。

大豆種間雜交除 *Soja* 亞屬外，*Glycine* 亞屬均無法產生雜交種子，其主要問題存在胚與胚乳之發育 (葉和蔡，1995)，本試驗擬由組織學上探討栽培種 (*G. max*) 與 *Glycine* 亞屬野生種大豆，其自交及雜交後，胚及胚乳之發育特性，以做為大豆種間雜交育種胚培養之參考。

材料與方法

利用栽培種大豆 (*G. max*) 中興 3 號 (CH 3) 與高雄選 10 號 (KS10)，*Glycine* 亞屬野生種大豆之 *G. tomentella* (To1、To4、To12、To15)、*G. dolichocarpa* (Do1、Do2、Do3、Do4)、*G. tabacina* (Ta2、Ta3、Ta18)、*G. latifolia* (La1、La2、La3、La5)、*G. canescens* (Ca1)、*G. falcata* (Fa1) 等 8 種 19 個系統做為材料 (表 1)。

將上述野生種大豆於春作開始栽培，栽培種大豆於春、夏、秋作時，大約每隔 7 天，以直徑 30 cm 塑膠盆栽種，放置於中興大學農藝系溫室。5-12 月間栽培種大豆盛花期時，選取中節位開花前一天的花蕾，於早上 8 至 11 點間，先行人工去雄，並採當日盛開花朵的花粉，隨即人工授粉，掛上標示牌，進行大豆栽培種和野生種種間之正、反交，並以各種之自交為對照進行觀察，並摘除母株未授粉之花朵及自交莢。

試驗共分為三個部份進行，試驗一係大豆種間雜交之研究，自 1989 至 1994 年夏作，調查各雜交組合 5-12月，正、反雜交 5 天內不落花、落莢之雜交成功率(Broue *et al.*, 1982)。試驗二係大豆不同物種自交胚、胚乳發育之研究，以栽培種大豆 *G. max* (KS10) 與野生種之 *G. tomentella* (To12)、*G. dolichocarpa* (Do3)、*G. tabacina* (Ta2、Ta1 8)、*G. latifolia* (La2)、*G. canescenes* (Ca1) 等 6 個種7 系統，先每隔 3 天取人工自交後不同胚齡之子房或莢，經以石蠟切片法 (蔡，1988) 觀察胚之發育時期，待觀察到胚、胚乳後，再±1-2 天取樣觀察，調查胚不同發育期之所需日數。試驗三為大豆種間雜交胚、胚乳發育之研究，在正交方面，以栽培種大豆 *G. max* (KS10) 為母本，*G. tomentella* (To 12)、*G. dolichocarpa* (Do3)、*G. tabacina* (Ta 2)、*G. latifolia* (La2)、*G. canescens* (Ca1)、*G. falcata* (Fa1) 等 *Glycine* 亞屬之 6 個種為父本；反交則以 *G. tomentella* (To12)、*G.*

表 1. 供試材料大豆屬不同物種之系統代號及來源

Table 1. The list of species, code of strains, and source of seeds of *Glycine* used in this study.

Species	Code of strains	Source of seeds	No. of chromosome (2n)
G. max	CH3	Taiwan	40
	KS10	Taiwan	40
G. tomentella	To1	Taiwan	80
	To4	Taiwan	80
	To12	Taiwan	80
	To15	Taiwan	80
G. dolichocarpa	Do1	Taiwan	80
	Do2	Taiwan	80
	Do3	Taiwan	80
	Do4	Taiwan	80
G. tabacina	Ta2	Australia	80
	Ta3	Australia	80
G. tabacina	Ta18	Taiwan	80
G. latifolia	La1	Australia	40
	La2	Australia	40
	La3	Australia	40
	La5	Australia	40
G. canescens	Ca1	Australia	40
G. falcata	Fa1	Australia	40

dolichocarpa (Do3) 及 *G. tabacina* (Ta2) 爲母本，*G. max* (KS10) 爲父本進行雜交，取雜交後不同胚齡之子房或莢，利用石蠟切片觀察胚、胚乳發育與敗育的情形。

結　果

一、大豆種間雜交之研究

本試驗共進行 12 個雜交組合，6,261 個雜交，雜交後 5 天內不落莢者有 523個，其中包含正交 4,972 個雜交，468 個莢，成功率爲 9.4% ；反交者 1,289 個雜交，5 天不落莢者有 55 個，成功率爲 4.3% (表 2)，所有雜交組合之雜交莢均發育不良，且於授粉後 25 天左右掉落，無法獲得正常雜交種子。

(一)正交方面：

以栽培種 *G. max* 爲母本，*G. tomentella*、*G. dolichocarpa*、*G. tabacina*、*G. latifolia*、*G. canescens*、*G. falcata* 爲父本進行雜交，由表 2 中得知 *G. max* × *G. dolichocarpa* 雜交成功率 13.3% 爲所有組合中最高者，其次 *G.max* × *G. tomentella* 之 11.7% ，最低者爲 *G. max* × *G. falcata* 之 4.6 % 。

(二)反交方面：

以遠緣野生種 *G. tomentella*、*G. dolichocarpa*、*G. tabacin a*、*G. latifolia*、*G. canescens*、*G. falcata* 爲母本，栽培種大豆

表 2. 大豆種間正反雜交之成功率 (授粉後 5 日調查)

Table 2. Successful rate of interspecific cross of *Glycine* species measured at 5 days after pollination

正交(Cross)

♀＼♂	*G. tomentella*	*G. dolichocarpa*	*G. tabacina*	*G. latifolia*	*G. canescens*	*G. falcata*	Total
G. max	107/913 (11.7%)	174/1,307 (13.3%)	74/913 (8.1%)	51/804 (6.3%)	27/272 (9.9%)	35/763 (4.6%)	468/4,927 (9.4%)

反交(Reciprocal cross)

G. max	22/374 (5.9%)	11/198 (5.6%)	10/204 (4.9%)	9/171 (5.3%)	1/169 (0.01%)	2/173 (0.01%)	55/1,289 (4.3%)

(*G. max*) 爲父本，由表 2 得知 *G. tomentella* × *G. max* 5 天不落莢之雜交成功率最高爲 5.9% ，其次爲 *G. dolichocarpa* × *G. max*，成功率爲 5.6% ；再次爲 *G. latifolia* × *G. max*之 5.3% ，而 *G. canescens* × *G. max* 與 *G. falcata* × *G. max* 雜交莢大部份在授粉後 5 天內掉落，至今野生大豆除 *Soja* 亞屬之種間雜交可獲得正常種子外，*Glycine*亞屬野生大豆與栽培種大豆的種間雜交均無法獲得種子。

二、大豆不同物種自交胚、胚乳發育之研究

本試驗以栽培種大豆 *G. max* (KS10) 與野生種之 *G. tomentella* (To12) 、 *G. dolichocarpa* (Do3) 、 *G. tabacina* (Ta2 、 Ta 18) 、 *G. latifolia* (La2) 、 *G. canescenes* (Ca1) 等 6 個種 7 系統，以石蠟切片法觀察各物種自交後胚、胚乳等組織發育的情形，結果如表 3。

㈠栽培種大豆 (*G. max*)

KS10 授粉 2 天時，合子橫分裂後之頂細胞和基細胞已各進行一次縱分裂，形成田字型 4 個細胞之原胚 (proembryo)，胚囊內之游離胚乳核已分裂達 80-100 多個，屬核型胚乳 (nucleartype)(圖 1-A)；5 天時頂細胞分裂而形成胚體爲圓球型期 (spherical embryo) (圖1-B)，部份並可看到原表皮分化；9 天胚爲心型期 (heart-shape embryo)，子葉原基已分化完成，游離胚乳核已達 200多個，並沿胚囊壁四周分佈，由基細胞發育而成之胚柄 (suspensor) 發育完成 (圖 1-C)；14 天胚發育達二子葉間，頂端分生組織已分化出芽原基之魚雷期 (torpedoembryo)，胚乳開始細胞化 (cellular ization)，慢慢崩解並爲胚所取代 (圖 1-D)；17 天胚軸已形成，爲子葉期 (cotyledon st age)，胚乳 (endosperm) 逐漸被子葉 (cotyledon) 吸收取代 (圖 1-E)，下胚軸已可看出明顯的維管束組織 (vascular)，根分生組織 (root meristem) 也已形成，整個下胚軸呈彎曲狀；22 天時子葉發育達最大，胚乳幾乎全部爲子葉所吸收取代，並佔據整個胚

表 3. 大豆不同物種自交胚及胚乳組織之發育

Table 3. Embryo and endosperm development of *Glycine* species.

Species	DAP*	Ovule size (mm)	Embryo Development			Endosperm Development	
			Embryo Size(mm)	Embryo Type**	Cell (No.)	Endosperm Type	Nulear (No.)
	2	0.45	0.03	PE	4-6	nuclear	80-100
	5	0.90	0.10	SE	60-80		-
G. max	9	1.60	0.15	HS	--		200
(KS10)	14	5.00	2.30	TO	--		-
	17	5.00	3.50	CO	--		-
	6	0.95	0.10	SE	40-60	nuclear	80-100
G. tomentella	9	1.20	0.25	HS	--		150-180
(To12)	14	2.50	2.00	TO	--		-
	17	3.00	2.80	CO	--		-
	4	1.10	0.10	SE	--	nuclear	50
G. dolichocarpa	10	1.20	0.25	HS	--		80
(Do3)	18	2.80	2.50	CO	--		-
	7	0.60	0.04	SE	40	nuclear	50
G. tabacina	9	1.80	1.40	HS	--		-
(Ta2)	13	2.50	2.10	CO	--		-
	4	0.55	0.05	SE	20	nuclear	50
G. tabacina	8	0.90	0.13	HS	--		160-200
(Ta18)	10	1.60	0.80	CO	--		-
	3	0.50	0.03	PE	8	nuclear	11
G. latifolia	4	0.90	0.10	SE	40		40-50
(La2)	6	1.10	0.20	HS	--		-
	12	1.20	0.30	CO	--		-
	7	1.00	0.10	SE	50	nuclear	120-150
G. canescens	11	1.30	0.15	HS	--		-
(Ca1)	13	1.50	0.60	CO	--		-

*DAP: days after pollination.

**PE: proembryo; SE: spherical embryo; HS: heart-shaped embryo;
TO: torpedo embryo; CO: cotyledon; -: not detected.

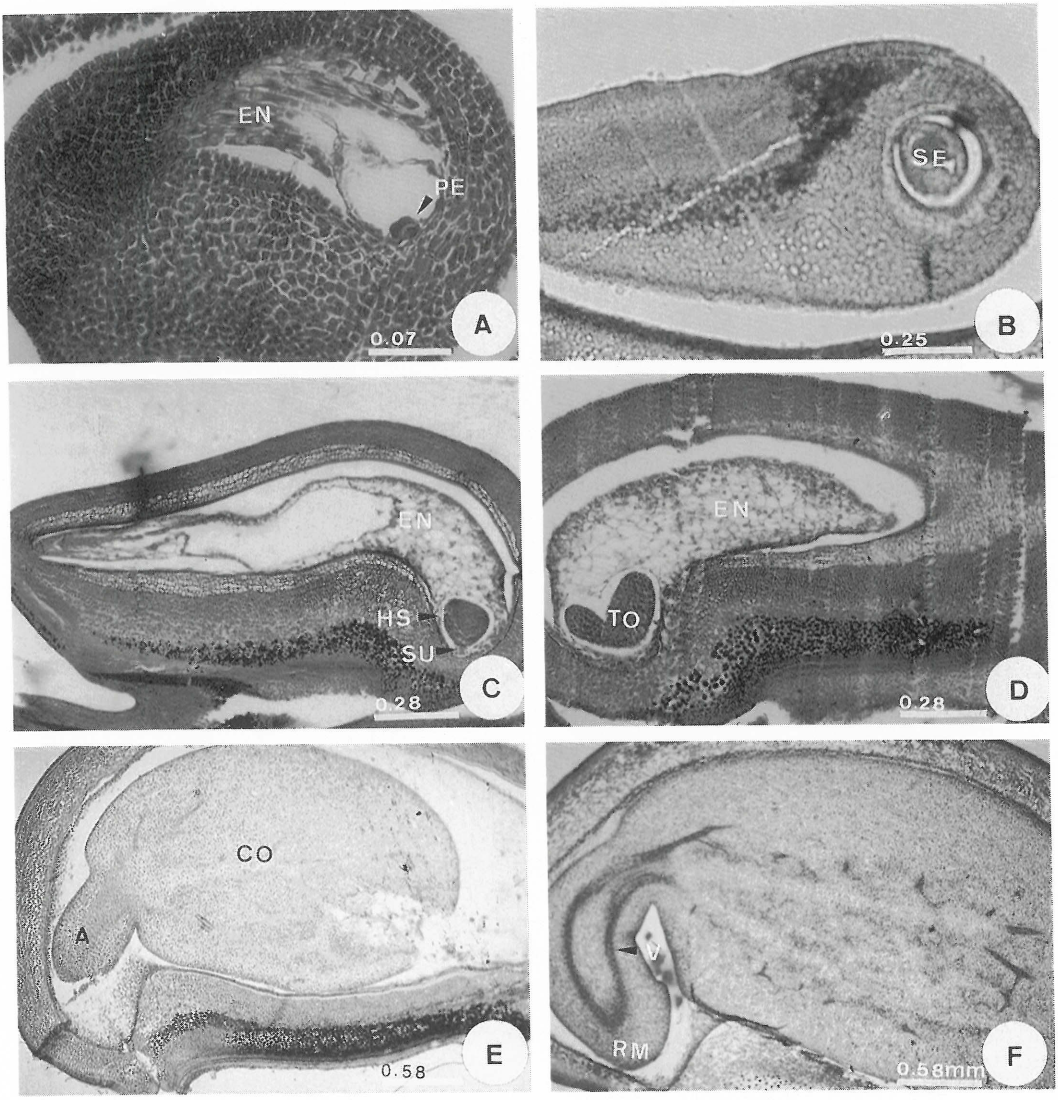

Fig. 1. Selfed embryo developmemt of *G. max* (KS10)

A. Proembryo stage, 2 days after pollination. (x 180)

B. Spherical embryo stage, 5 days after pollination. (x 61)

C. Heart-shape stage, 9 days after pollination. (x 55).

D. Torpedo embryo stage, 14 days after pollination. (x 55).

E. Cotyledon-stage, 17 days after pollination. (x 27).

F. Mature-stage, 22 days after pollination. (x 27).

A ： Axis, CO ： Cotyledon, EH ： Endosperm hausterium, EN ： Endorsperm, HS ： Heartshape embryo, OV ： Ovule, PE ： Proembryo, RM ： Root meristem, SE ： Spherical embryo, SM ： Shoot meristerm, SU ： Suspensor, TO ： Torpedo embryo. V ： Vascular.

囊絕大部份(圖 1-F)；24-25 天子葉取代胚乳並充滿整個胚囊，枝梢分生組織 (shoot meristerm) 分化完成。

㈡野生種大豆

⑴ *G. tomentella*

To12 自交後 6 天，胚發育至圓球型期，細胞數目約 40-60 個，由基細胞發育之胚柄已發育完全，胚乳屬核型胚乳，胚乳游離核約80-100 個，胚囊合點端的胚乳游離核凝聚成纖維狀之胚乳吸器 (endosperm hausterium)；9 天胚達心型期，隨胚體增大，胚乳細胞自珠孔端向合點端解體；14天時胚已達魚雷期，胚乳逐漸減少；17 天整個下胚軸呈彎曲狀，已分化出根分生組織。

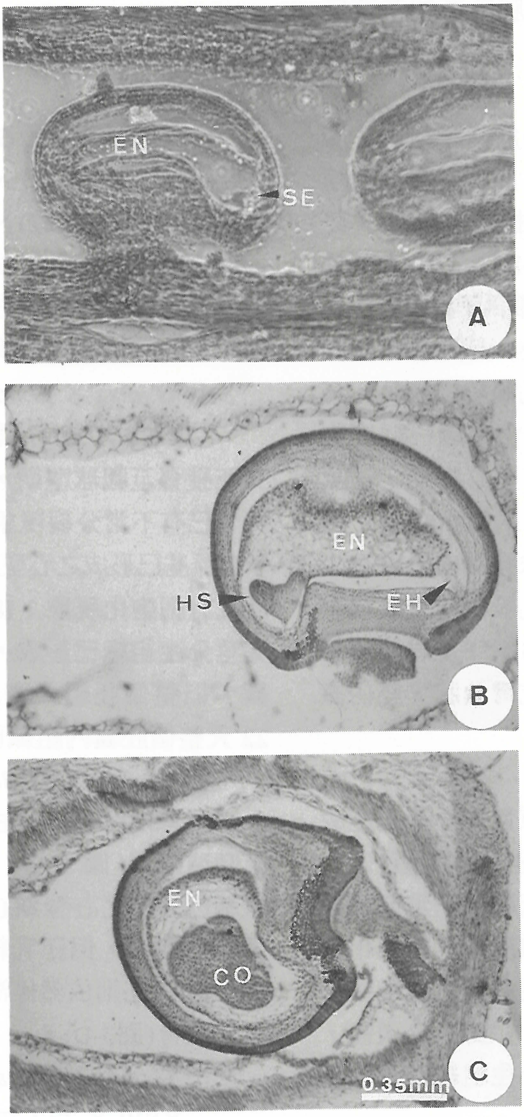

Fig. 2. Selfed embryo development of *G. dolichocarpa* (Do3)

A. Spherical embryo stage, 4 days after pollination. (x 40)

B. Heart-shape stage, 10 days after pollination. (x 40)

C. Cotyledon-stage, 18 days after pollination. (x 40)

(2) *G. dolichocarpa*

Do3 授粉後 4 天胚屬圓球型期，胚乳游離核約達 50 個，並延胚囊壁四周分佈，胚囊中間爲大型液泡所佔據 (圖 2-A)；授粉 10 天，胚發育達心型期，胚柄發育完全，胚乳細胞由珠孔端向合點端解體，胚乳游離核逐漸細胞化，並由珠孔向合點，胚囊四周向中央延伸，此時胚乳吸器明顯 (圖 2-B)；授粉 18 天胚發育至子葉期，胚乳漸被子葉所取代 (圖 2-C)。

(3) *G. tabacina*

Ta2 授粉後 7 天胚仍爲圓球型期，胚體部份可看到原表皮分化，胚乳游離核約達 50 個；9 天發育達心型期；授粉後 13 天，胚發育至子葉期，下胚軸已形成； 20 天時莖分生組織分化完成，胚乳幾乎爲子葉所取代。*G. tabacina* (Ta18) 在授粉後4 天胚發育至圓球型期，原表皮分化，胚乳屬核型胚乳，胚乳游離核數目約達 50 個，合點端一群細胞特化爲承珠盤；8 天胚發育至心型期，子葉原基分化，胚乳游離核數目約達 200 個，胚乳游離核逐漸細胞化並由珠孔端向合點端，邊緣向中央延伸，此時胚乳吸器尙未敗壞；10 天時胚發育到子葉期；15 天下胚軸形成，根分生組織形成，下胚軸成彎曲狀，胚佔據胚囊之大部份。

(4) *G. latifolia*

La2 授粉後 3 天爲原胚期；4 天胚成爲圓球型期，原表皮分化，胚乳屬核型胚乳，胚乳游離核約達 50 個；6 天時胚子葉原基分化，而成爲心型期，胚乳游離核已細胞化；12 天胚發育達子葉期，胚乳吸器之細胞較稀薄，子葉逐漸取代胚乳位置；授粉 17 天後，胚之下胚軸成彎曲狀，根分生組織及維管束組織已形成。

(5) *G. canescens*

Ca1 授粉 7 天胚爲圓球型期，原表皮分化，胚乳屬核型胚乳，胚乳游離核約 120 -150 個；11 天後胚子葉原基已分化，胚屬心型期，胚乳游離核沿胚囊四周分佈，胚囊中間爲大型液泡，胚乳游離核開始細胞化，且由胚囊壁四周向中央進行；13 天發育至子葉期；授粉後 21天子葉期胚已成熟，下胚軸之根原基、維管束組織形成，胚乳大部份已爲子葉所取代，胚乳吸器及承珠盤已解體。

三、大豆種間雜交胚、胚乳發育之研究

(一)正交

以栽培種大豆 *G. max* (KS10) 爲母本，*G. tomentella* (To12)、 *G. dolichocarpa* (Do 3)、*G. tabacina* (Ta2)、*G. latifolia* (La2)、*G. canescens* (Ca1)、*G. falcata* (Fa1) 等 *Glycine* 亞屬之 6 個種爲父本之雜交組合，所有組合胚、胚乳等組織之發育如表 4。

1. *G. max* × *G. tomentella*：

KS10 × To12 其胚在授粉後 11 天，雜交胚發育至圓球型期，原表皮層已分化，但胚乳已有不常分裂現象出現；14 天胚發育至子葉原基已形成之心型期，胚柄已發育完成，胚乳有細胞化現象；18 天胚發育至子葉期，其莖分生組織已形成，子葉即將充滿整個胚囊，但整個胚組織細胞鬆散有敗育現象；22 天整個胚囊內組織已敗育。

2. *G. max* × *G. dolichocarpa*：

KS10 × Do3 在授粉後 6 天時胚發育至圓球型期(圖 3-A)；12 天時胚發育之子葉原基已分化之心型期 (圖 3-B)；至 16 天時胚仍爲心型期，但胚乳細胞已開始敗育 (圖 3-C)；24 天胚則依然停滯在心型期，但胚乳已完全敗育(圖3-D)。

3. *G. max* × *G. tabacina*：

KS10 × Ta2 在授粉後 5 天時合子分裂至原胚期，12天胚仍停滯在圓球期；至 16 天時胚乳游離核已由胚囊壁四周向中央

表 4. 大豆屬栽培種×野生種種間雜交胚及胚乳組織之發育

Table 4. Embroyo and endosperm development of interspecific hybrids between *G. max* (cv. KS10 as female parent) and other *Glycine* species.

Male parent*	Organ	Days after pollination							
		1-3	4-6	7-9	10-12	13-15	16-18	19-21	22-25
G. max (KS10)	Embryo	SE	SE	HS	HS	To	CO		
	Endosperm	+	+	+	+	+	+		
G. tomentella (To12)	Embryo				SE	HS	CO(±)	CO(±)	−
	Endosperm				±		±	−	−
G. dolichocarpa (Do3)	Embryo		SE	SE	SE-HS	HS	HS	HS	HS(±)
	Endosperm		+	+	+	+	−	−	−
G. tabacina (Ta2)	Embryo		PE	SE	SE		SE(±)		−
	Endosperm		+	+	+		±	±	−
G. latifolia (La2)	Embryo			UN			SE		−
	Endosperm			±					−
G. canescens (Ca1)	Embryo			UN			SE	To(±)	−
	Endosperm			+			+	±	−
G. falcata (Fa1)	Embryo	PE	PE	SE	SE	SE	SE	−	
	Endosperm	+	+	+	+	±	−	−	

*PE: proembryo; SE: spherical embryo; HS: heart-shaped embryo;TO: torpedo embryo; CO: cotyledon embryo; UN: unshaped; +: normal; ±: abnormal; −: abortion.

細胞化，但組織結構鬆散；24 天時胚囊內組織則已敗育。

4. *G. max* × *G. latifolia*：

KS10 × La2 授粉後 8 天，胚乳已出現敗育現象，而胚則尚未成型 (unshape)；16 天胚只發育至圓球型期，22 天胚、胚乳已完全敗育。

5. *G. max* × *G. canescens*：KS10 × Ca 1 授粉後 8 天胚雖尚未成型，胚乳仍屬正常；16 天胚只發育至圓球型期，原表皮層已分化；至 20 天時胚發育至魚雷期，但胚乳鬆散出現敗育現象，25 天時胚、胚乳均已敗育。

6. *G. max* × *G. falcata*：

KS10 × Fa1 授粉後 5 天雜交胚仍維持在原胚期；8 天雜交胚發育至圓球型期；13 天時胚乳游離核呈細胞化且開始敗育；18 天胚仍停滯在圓球型但胚乳已出現敗育現象；

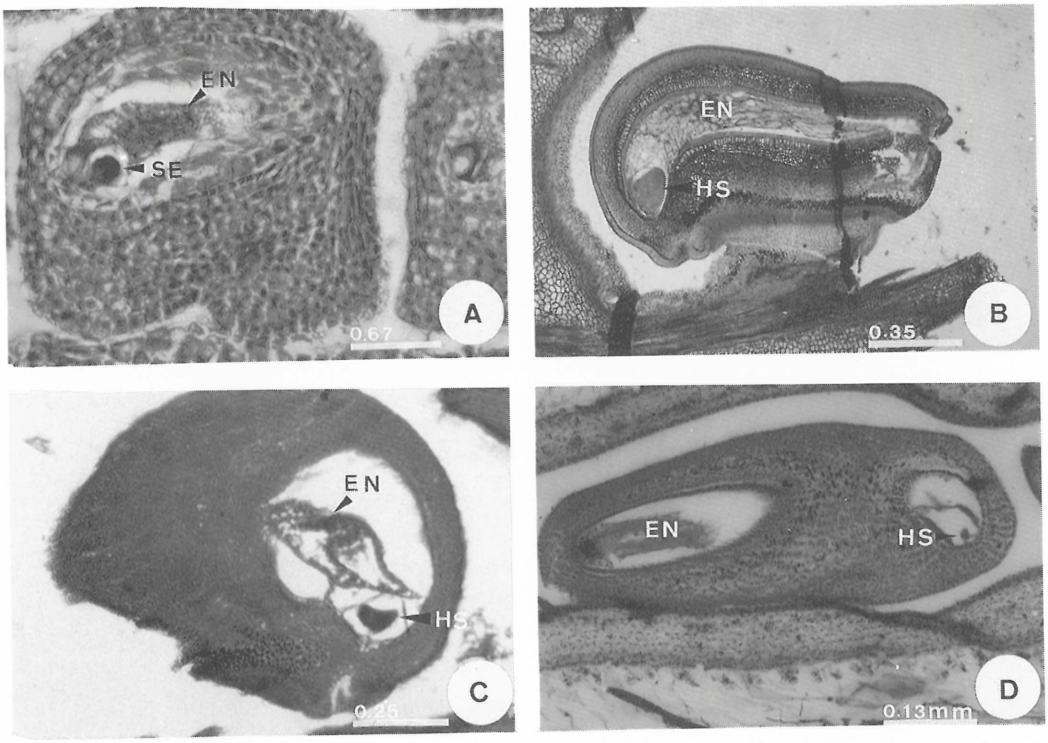

Fig. 3. Development of hybrid embryo of *G. max* (KS10) × *G. Dolichocarpa* (Do3)

A. Spherical embryo stage, 6 days after pollination. (x 260)

B. Heart-shape stage, 12 days after pollination. (x 40)

C. Heart-shape stage, 16 days after pollination. (x 61)

D. Heart-shape stage, 24 days after pollination. (x 80)

21天時整個胚珠(ovule)已經敗育萎縮。

㈡反交

以野生種 *G. tomentella* (To12)、*G. dolichocarpa* (Do3) 及 *G.tabacina* (Ta2) 爲母本，G. max (KS10) 爲父本進行雜交，觀察雜交胚、胚乳發育，結果如表5。

1. *G. tomentella* × *G. max*：

To12 × KS10 授粉後12天胚發育至圓球型期，細胞化之胚乳細胞發育呈現不正常現象；14天胚已發育至心型期，葉原基分化，但胚乳也已開始敗育；16天胚發育達魚雷期，子葉原基已分化但胚乳已完全敗育；24天胚仍停滯在魚雷期，但也已出現敗育現象。

2. *G. dolichocarpa* × *G. max*：

Do3 × KS10 授粉後16天胚只發育至圓球型期，原表皮層分化，而胚乳已開始敗育；至21天胚、胚乳完全敗育，整個胚珠已呈現萎縮現象。

3. *G. tabacina* × *G. max*：

Ta2 × KS10 在授粉後23天胚仍只停滯在圓球型期，胚細胞數目約達50個，而

表 5. 大豆屬野生種與栽培種種間雜交胚及胚乳組織之發育

Table 5. Embryo and endosperm development of interspecific hybrids between *G. max* (as male parent) and other *Glycine* species.

Cross	Organ	Days after pollination								
		1-3	4-6	7-9	10-12	13-15	16-18	19-21	22	23-24
G. tomentella (To12)	Embryo		SE	HS	HS-TO	TO	CO			
× *G. tomentella* (To12)	Endosperm		+	+	+	+	+			
G. tomentella (To12)	Embryo				SE	HS	TO	TO	TO	TO(±)
× *G. max* (KS10)	Endosperm				±	±	−	−	−	−
G. dolichocarpa (Do3)	Embryo		SE		HS		CO			
× *G. dolichocarpa* (Do3)	Endosperm		+		+		+			
G. dolichocarpa (Do3)	Embryo	SE			SE		SE	−		
× *G. max* (KS10)	Endosperm	+			±		−			
G. tabacina (Ta2)	Embryo			SE-HS	HS	CO				
× *G. tabacina* (Ta2)	Endosperm			+	+	+				
G. tabacina (Ta2)	Embryo				SE					SE(±)
× *G. max* (KS10)	Endosperm				±					−

*PE: proembryo; SE: spherical embryo; HS: heart-shaped embryo; TO: torpedo embryo; CO: cotyledon embryo; +: normal; ±: abnormal; −: abortion.

胚乳細胞大部份均已敗育，胚珠呈萎縮。

綜合上述觀察結果，KS10 × To12 在 11 天時胚乳不正常分裂，18 天胚發育達子葉期，但胚組織鬆散，有敗育現象；KS10 × Do3 在授粉後 16 天胚乳開始敗育，24天胚則仍停滯在心型期；KS10 × Ta2 在 16 時天胚乳組織呈現鬆散，24 天胚囊內組織已敗育；K S10 × La2 第 8 天時胚乳開始敗育，22 天圓球型期胚及胚乳均已敗育；KS10 × Ca1胚在 20 天爲魚雷期，胚乳已出現敗育；KS10 × Fa1 第 13 天時胚乳即出現敗育，胚則仍停滯在 8 天時之圓球型期。反交部份，To12 × KS10 在 12 天胚乳呈不正常現象，24 天時魚雷期胚才敗育；Do3 × KS10 於 16 天胚乳敗育，21 天胚珠已萎縮；Ta2 × KS10 第 12 天胚乳不正常，23 天圓球型期胚及胚囊敗育萎縮。

討　論

一、種間雜交之研究

由實驗結果得知 *G. max* 與 *Glycine* 亞屬之雜交組合均無法獲得雜交種子，此結果和

Ladizinsky *et al.* (1979)、Hood and Allen (1980)、Chung and Kim(1990) 及 Tsai and Yeh (1992) 的結果一致，實驗中所有組合之雜交莢果大都發育不良，且一般在授粉後 25 天內掉落，此結果和 Ladizinsky *et al.* (1979) 發現雜交後的莢果在 10-21 天之間容易黃化和脫落之結果相近。而影響雜交成功率之因子中，除人爲所造成的差異外，氣象因素亦爲不可忽視因子，Byth (1966) 指出，大豆雜交之最適溫度爲 26℃ 左右，吳 (1977) 認爲在低溫環境下，對大豆花粉會降低發芽率，游和葉 (1989) 曾在目前實驗地測 *G. tomentella*、*G. tabacina*及 *G. falcata*，發現 7-9 月花粉均能發芽，雜交成功率較高之7-11月份臺中地區八十一年平均氣溫介於22.9-28.3℃，適合花粉之萌芽。然就表 2 結果發現，大豆種間雜交成功率普遍偏低，游和葉 (1989) 即曾利用嫁接來提高大豆種間雜交之成功率，而葉 (1995) 更施用乙烯合成抑制劑 $CoCl_2$ 及乙烯作用抑制劑 $AgNO_3$ 二者之結果均能有效延遲雜交莢之掉落，且雜交成功率均能獲得提升，但仍不能獲得正常種子，若能配合大豆雜種胚培養技術 (Singh and Hymowitz, 1985；Singh *et al.*, 1987；Chung and Ki m, 1990)，也許可獲得正常之雜種植株。

二、不同物種大豆自交胚、胚乳發育之研究

早在 1966 年 Davis 就曾對蝶形花亞科植物的胚胎發育特徵做過描述。胡(1982) 指出當初生胚乳核分裂及其爾後的分裂不伴隨形成細胞壁，在胚囊中的中央細胞內形成的核呈游離態分佈，在細胞質中，隨游離核的增加及液泡的擴大，核常被擠壓到胚囊邊緣，中央爲大液泡佔據 ，則此胚乳型態屬核型胚乳 (nucleartype)。申等 (1991) 更對大豆 *Soja* 亞屬之 *G. max*、*G. gracilis* 及 *G. soja* 三種的胚胎發育有過深入的探討。但至今 *Glycine* 亞屬野生大豆胚胎之發育則尙未有報告出現，本研究針對 *Glycine* 亞屬野生大豆之胚胎發育進行觀察，藉以提供爾後大豆遠緣雜交育種時之參考資料。就觀察結果：*Glycine* 亞屬內之野生大豆，及 *G. max* 均屬核型胚乳，此與申等 (1991) 探討 Soja 亞屬之 *G. soja*、*G. gracilis*、*G. max*之胚乳型態相同，同爲核型胚乳；胡 (1982) 也指出胚乳吸器在豆科植物是相當普遍的，其亦指出胚乳吸器在圓球型期或心型期胚時已發育完全，至魚雷或子葉期時，隨胚體之增大而遭擠壓並導致敗壞。本研究中，在 To126 天時胚乳吸器已形成，14 天胚達魚雷期時，胚乳吸器受擠壓而逐漸解體，因此觀察之野生大豆及栽培種大豆的胚乳吸器，與胡 (1982) 及申等 (1991) 指出之胚乳吸器形成與敗壞大致相似。在不同物種胚之發育時間上則有很大差異，就對照之栽培種 *G. max* (KS10) 其授粉後 2 天，胚發育達 4 個細胞之原胚期 (proembryo)，此與申 (1983) 謂大豆授粉後之合子 (zygote) 有 28 小時之靜止期，爾後再行第一次有絲分裂，二者吻合；KS10 授粉後 2 天胚發育至原胚期，5 天胚爲圓球型期，9 天爲心型期，14 天爲魚雷期，17 天發育達子葉期，此等結果與 Tsai and Yeh (1992) 之觀察結果相近。

三、大豆種間雜交胚、胚乳發育之研究

一般而言，種間雜交之莢果均在 10-21 天內黃化及掉落 (Ladizinsky *et al.*, 1979)，Tsai and Yeh (1992) 認爲 *Glycine* 亞屬與 *G. max* 各種雜交組合無法獲得正常雜交種子，乃因雜交胚在不同發育時期產生停滯或敗育所致。在雜交胚發育方面，所有雜交組合之胚乳均較雜交胚提前不正常分裂或敗育，如 KS10 × To12 11 天雜交胚乳即不正常分裂；而雜交胚則在 18 天才發生不正常分裂；反

交方面，To12 ×KS10 雜交胚乳在 14 天已發生不正常分裂，雜交胚 16 天才發育至魚雷期，此時期雜交胚乳已敗育；而胚在其養份供應有三條路線：1. 透過胚柄 (suspensor) 細胞之胞間連絡絲 (plasmodesmata) 輸送至胚 (Dute and Peterson, 1984)；2. 經由珠孔端胚柄附近之轉移細胞輸送至胚 (Folsom and Cass, 1985)；3. 由漸膨大的胚擠壓胚乳導致崩壞，並吸收胚乳的養份 (Chamberlin and Horner, 1990)。Weaver (1957) 推測雜交胚、胚乳之間存在的生理不協調，可能是由於雜交胚產生一種物質，使雜交胚乳生長停止，最後發生敗育；胡 (1982) 並認為如果胚乳敗育則胚將發生饑餓，導致雜交胚發育停滯，甚至敗育。因此種間雜交胚乳較雜交胚提前敗育，極可能是雜交胚與雜交胚乳之生理不協調，使得雜交胚乳敗育，在雜交胚乳敗育後，反而使得養份供應胚發育之路線損失，使得日漸膨大的胚養份供應不足，造成饑餓狀態，最後並導致雜交胚敗育及莢掉落。

引用文獻

1.申家恆。1983。大豆受精作用的研究。植物學報 25：213-221。

2.申家恆、田國佛、李玉芬、李慧榮、王曉燕、張淑玲、張燕馥。1991。栽培大豆、半野生大豆、野生大豆比較胚胎學研究。大豆科學 10：253-263。

3.林正斌。1993。大豆栽培種和野生種自交與種間雜交胚及胚乳發育之研究。國立中興大學農藝學研究所碩士論文。

4.吳詩都。1977。大豆耐寒行性之育種研究(1)低溫環境下花粉及及農藝性狀之變異。科學發展月刊 5：664-667。

5.胡適宜。1982。被子植物胚胎學。曉園出版社，台北。第 155-170 頁。

6.游添榮、葉茂生。1989。大豆屬開花、授粉習性與種間雜交之探討。農林學報38(1)：49-60。

7.葉茂生、蔡清榮。1995。大豆屬種間雜交胚發育的研究。中華農學會報(印刷中)。

8.葉茂生。1995。大豆種間雜交不稔性生理學上的研究 I. 乙烯釋放量與雜交莢果柄離層形成與雜交胚發育之關係。國科會 84 年研究報告。

9.蔡淑華。1988。植物組織切片技術綱要。茂昌圖書有限公司，台北。

10.盧英權。1966。大豆栽培種、中間種及野生種之形態的、生理的、細胞遺傳的變異研究。農林學報 15：1-31。

11.Brown, A. H. D., J. E. Grant, J. J. Burdon, and J. P. Grace. 1984. Wild perennial *Glycine* species as genetic resources for soybean improvement. Soybean Genet. Newsl. 11:17-19.

12.Byth, D. C. 1966. Hybridization and pollen germination in soybean. Aust. J. Exp. Agr. Anim. Husb. 6:371-373.

13.Chamberlin, M. A. and H. T. Horner. 1990. Nutrition of early embryo development in *Glycine max* (L.) Merr. Amer. J. Bot. 77: 9.

14. Chung, G. H. and J. H. Kim. 1990. Production of interpecific hybrids between *Glycine max* and *G. tomentella* through embryo culture. Euphytica 48:97-101.

15. Dute, R. R. and C. M. Peterson. 1984. Features of the proembryo and free-nuclear endosperm of soybean, *Glycine max* (L.) Merr. Amer. J. Bot. 71: 5.

16. Folsom, M. W. and D. D. Cass. 1985. Changes in transfer cell distribution in the ovule of soybean after fertilization. Can. J. Bot. 64: 965-972.

17. Hood, M. J. and F. L. Allen. 1987. Interspecifi hybridization studies between cultivated soybean, *Glycine max* and a perennial wild relative, *G. falcata*. *In* : Soybeans: Improvement, Production, and Uses (J. R. Wilcox, ed.), p.40. Amer. Soc. Agron., U.S.A.

18. Ladizinsky, G., C. A. Newell, and T. Hymiwotz. 1979. Wide crosses in soybeans: prospects and limitations. Euphytica 28:421-423.

19. Newell, C. A. and T. Hymowitz. 1975. *Glycine canescens* F. J. Herm., a wild relative of the soybean. Crop Sci. 15:879-881.

20. Newell, C. A. and T. Hymowitz. 1980. A taxonomic revision in the genus *Glycine* subgenus *Glycine* (Leguminosae). Brittonia 32:63-69.

21. Pantalone, V. R. and W. J. Kenworthy. 1989 . Salt tolerance in *Glycine max* and perennial *Glycine*. Soybean Genet. Newsl. 16:145-146.

22. Shoemaker, R. C., M. S. Heath, H. Skorupksa, X. Delnnay, M. Edge, and C. A. Newall. 1990. Fertile progeny of a hybridization between [*Glycine max* (L.) Merr.] and *G. tomentella* Hayata. Theor. Appl. Genet. 80:17-18.

23. Singh, B. B.,D. D. Singh, and S. C. Gupta. 1974. PI 171.443 and *G. formosana* resistant lines for yellow mosaic of soybean. Soybean Genet. Newsl. 1:17-18.

24. Singh, R. J. and T. Hymowitz. 1985. An intersubgeneric hybrid between *Glycine tomentella* Hayata and the soybean, *G. max* (L.) Merr. Euphytic 34: 187-192.

25. Singh, R. J., K. P. Kollipara, and T. Hymowitz. 1987. Intersubgeneric hybridization of soybeans with a wild perennial species, *Glycine clandestina* Wendl. Theor. Appl. Genet. 74:391-396.

26. Stalker, H. T. 1980. Utilization of wild species for crop improvement. Adv. Agron. 33:112-147.

27. Tateish, Y. and H. Okashi. 1992. Taxonomic studies on *Glycine* of Taiwan. J. Jpn. Bot. 67:127-147.

28. Tindale, M. D. 1984. Two new Eastern Australian species of *Glycine* Willd. (Fabaceae). Brunonia 7:207-213.

29. Tindale, M. D. 1986a. A New North Queensland species of *Glycine* Willd. (Fabaceae). Brunonia 9:99-103.

30. Tindale, M. D. 1986b. Taxonomic notes on three Australian and Norfolk Island species of *Glycine* Willd. (Fabaceae: Phaseolae) including the choice of a neotype for *G. clandestina* Wendl. Brunonia 9:179-191.

31. Tindale, M. D. and L. A. Craven. 1988. Three new species of *Glycine* (Fabaceae: Phaseolae) from Northwestern Australia, with noteson amphicarpy in the genus. Aust. Syst. Bot. 1:399-410.

32. Tsai, C. J. and M. S. Yeh. 1992. Pollen germination and pollen tube elongation in interspecific hybridization of *Glycine*. Proceed. Nat. Sci. Council, R.O.C. Part B: Life Sci. 16:144-150.

33. Weaver, J. B. 1957. Embryological studies following interspecific crosses in Gossypium. I. *G. hirsutum* x *G. arboreum*. Amer. J. Bot. 44: 209～214.

Development of Embryo and Endosperm Derived from Interspecific Hybridization of *Glycine*

Jeng-Bin Lin and Mau-Shing Yeh
Department of Agronomy, National Chung-Hsing
University Taichung, Taiwan, R.O.C.

Interspecific reciprocal crosses were made between *G. max* and *G. tomentella*, *G. dolichocarpa*, *G. tabacina*, *G. latifolia*, *G. canescens*, *G. falcata* of the subgenus *Glycine*. The successful rates of reciprocal crosses were investigated. Further,the developmental characteristics of embryo and endosperm of selfed and interspecific cross in *Glycine* species using paraffin section were also examined. The results were summarized as follows.

When *G. max* cv. KS10 was used as female parent, 468 hybrid pods were obtained. The successful rate of cross and reciprocal cross were 9.4% (468/4,972) and 4.3% (55/1289), respectively. The poding period could be over 25 days, no hybrid seed was harvested. Observation of the developmental characteristics of embryo and endosperm of *Glycine* species showed that the endosperm belonged to a nuclear type. However, the embryo development was unequal among species, *G. tabacina* (Ta18) showned the fastest, followed by *G. latifolia* (La2), *G. canescens* (Ca1), *G. max* (KS10), and *G. tomentella* (To12), and *G. dolichocarpa* (Do3) was the slowest. The durations of embryo development into the cotyledon- stage for the above species were, in order, 10, 12, 13, 17 and 18 days. Observation made on the developmental characteristics of embryo and endosperm between of the interspecific crosses in *Glycine* species showed that the abortion of endosperm was faster than that of embryo in all combinations. In cross and reciprocal cross combinations, abortion occurred at 11-16 days and 18-24 days for endosperm and embryo, respectovely.

Keywords: Soybean, Interspecific hybridization, Embryo, Endosperm.